

14
PROSIDING

SEMINAR NASIONAL

ISBN 978-602-9372-63-2

Surabaya, 10 - 11 Desember 2013

Di Selenggarakan oleh LPPM UPN "Veteran" Jawa Timur

**PENGEMBANGAN LUARAN PENELITIAN
MENDUKUNG DUNIA INDUSTRI**



**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" JAWA TIMUR**

Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar Surabaya
Telp./Fax. 031-8781400, Email : lppm_upn@yahoo.com



SEMINAR HASIL PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT YANG DIDANAI
DP2M DIKTI, RISTEK, KKP3T, KPDT, PEMDA DAN UPNVJ TAHUN 2013
Surabaya, 10 – 11 Desember 2013
Diselenggarakan Oleh LPPM – UPN “Veteran” Jawa Timur

BIDANG PERTANIAN

| | | |
|---|-------|--------------------|
| Evaluasi Sumber Daya Lahan di Desa Wringinpitu dan Catak Gayam Kecamatan Mojowarno, Jombang Oleh : Kemal Wijaya, Purnomo Edi Sasongko, Wanti Mindari, Agus Fahmi | | (2-1) Pertanian 1 |
| Kajian Potensi Banjir Akibat Perubahan Pada Berbagai Penggunaan Lahan Di Wilayah Kota Surabaya Oleh : Ir. Moch. Arifin, MT. | | (2-2) Pertanian 14 |
| Karakteristik Dan Keterampilan Hidup Menjadi Wirausaha Pada Mahasiswa Upn “Veteran” Jawa Timur Oleh : Supamrih, Maroeto, Yuliatin, Moch Arifin, Abdullah Fadil | | (2-3) Pertanian 24 |
| Implementasi Intelligent and Technology Internet Mobile System (InTIMS) pada Purwarupa Sistem Peringatan Dini Kekeringan dan Pengaturan Pola Tanam Oleh : Purnomo Edi Sasongko, Akhmad Fauzi, Susrama | | (2-4) Pertanian 30 |
| Kajian Introduksi Rhizobakteria Pseudomonad Fluorescens Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Cabai Di Lapang Oleh : Yenny Wuryandari, Sri Wiyatiningsih, Agus Sulistyono | | (2-5) Pertanian 37 |
| A Study of forming cell suspension culture <i>Camelia sinensis</i> and the detection of secondary metabolite Epicatechin Gallate Oleh : Sutini, Nana Dyah Siswati, M. Rasjad Indra, Djoko Agus P. | | (2-6) Pertanian 44 |
| Substitusi Media Tanam Serbuk Gergaji Kayu Dengan Sampah Organik Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Jamur Tiram Oleh : Guniarti, Widiwujani, Djarwatiningsih, Hadi Suhardjono | | (2-7) Pertanian 49 |
| Potensi Pemberian Jus Kulit Buah Manggis (<i>Garcinia Mangostana</i> <i>L.</i>) Dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Gula Darah Dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus Yang Diinduksi Streptozotocin Oleh : Maris Kurniawati | | (2-8) Pertanian 56 |
| Alginat Mikroenkapsulasi Fkc <i>Vibrio</i> Sp Untuk Vaksin Oral Benih Kerapu Tikus Menghadapi Vibriosis Oleh : Sumaryam, Dwirini Kartikasari | | (2-9) Pertanian 62 |



A Study of forming cell suspension culture *Camelia sinensis* and the detection of secondary metabolite Epicatechin Gallate

Sutini *, Nana Dyah Siswati*, M. Rasjad Indra *** Djoko Agus Purwanto ****

* Agrotechnology Department of Agriculture Faculty UPN “Veteran” East Java.

** Chemical Engineering Department of Industrial Technology Faculty UPN “Veteran”

*** Physiology Department of Medical School Faculty Brawijaya University, Malang

**** Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University.

Email: tien_basuki@yahoo.com

ABSTRACT

Epicatechin gallate (ECG) is one of bio active compound which is found in *Camellia sinensis*. The problem for getting ECG from a plant is that because of the harvest of the compound needs to wait until the age of the plant is about 5 to 10 years, besides it has to be planted in the land of 800-2000m height. The study of forming cell suspension culture is conducted to decrease this kind of problem because this technique is more effective since it does not depend on the height of land. The research methods include: (1) callus induction by planting the explant of the leaf tip cut of *Camellia sinensis* on media with growth controller substances auxin-sitokinin, (2) callus subculture on the same media and growth controller substances, (3) induction of ECG accumulation on cell suspension culture by using elicitor, (4) Qualitative ECG identification, (5) the result of suspension culture research is hoped containing ECG as antioxidant candidate.

Keywords: *Epicatechin* gallate, *Camellia sinensis* plant, suspense cell culture, secondary metabolite

STUDY PEMBENTUKAN KULTUR SUSPENSI SEL *CAMELLIA sinensis* DAN DETEKSI METABOLIT SEKUNDER *EPICATECHIN* gallateNYA

ABSTRAK

Epicatechin gallate (ECG) adalah salah satu senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman *Camellia sinensis*. Permasalahan mendapatkan ECG dari tanaman adalah pemanenan senyawanya menunggu hingga tanaman berumur sekitar lima hingga sepuluh tahun, disamping itu harus ditanam di lahan dengan ketinggian antara 800-2000m. Untuk mengurangi permasalahan tersebut dilakukan study pembentukan kultur suspensi sel, karena teknik ini lebih efektif yang tidak tergantung oleh ketinggian lahan. Metode penelitian yang dilakukan, meliputi: (1) induksi kalus dengan menanam eksplant potongan pucuk daun *Camellia sinensis* pada media dengan zat pengatur tumbuh auksin-sitokinin, (2) subkultur kalus pada media dan zat pengatur tumbuh yang sama, (3) induksi akumulasi ECG pada kultur suspensi sel menggunakan elisitor, (4) identifikasi ECG secara kualitatif, (5) Hasil penelitian kultur suspensi diharapkan berisi ECG, sebagai kandidat anti oksidan

Keywords: *Epicatechin* gallate, *Camellia sinensis* plant, suspense cell culture, secondary metabolite



PENDAHULUAN

Epicatechin gallate (ECG) adalah salah satu senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman *Camellia sinensis*. Kandungan ECG pada daun *Camellia sinensis*/teh yang dipetik dari lahan bervariasi hal ini dipengaruhi oleh asal dari tumbuhnya tanaman dan varietas dari tanaman dan pemupukan tanaman (Velayutham et al., 2008). ECG dalam daun teh dapat berkasiat sebagai perlindungan terhadap kanker, anti diabet, menurunkan tekanan darah dan anti obesitas. Menurut Suryaningsih (2008) *Epicatechin gallate* dari daun teh mempunyai daya hambat terhadap terjadinya pigmentasi kulit karena paparan radiasi UV-B.

Permasalahan mendapatkan ECG dari tanaman adalah pemanenan senyawanya menunggu hingga tanaman berumur sekitar lima hingga sepuluh tahun, disamping itu harus ditanam di lahan dengan ketinggian antara 200-2000m. Untuk mengurangi permasalahan tersebut dilakukan study pembentukan kultur suspensi sel tanaman *Camellia sinensis* yang lebih efektif dan tidak tergantung oleh ketinggian lahan. Teknik kultur suspensi mempunyai keuntungan dalam produksi metabolit dibandingkan dengan tanaman utuh karena kecepatan pertumbuhan sel dan biosintesis dalam kultur yang diinisiasi dari eksplan sangat tinggi dan dalam periode yang sangat singkat. Menurut Watimena, (1992) aplikasi kultur in vitro dalam produksi metabolit sekunder memiliki beberapa keuntungan seperti: sistem produksi dapat diatur sesuai kebutuhan, lebih konsisten, tidak tergantung musim, dan mengurangi penggunaan lahan. Kultur in vitro juga lebih ekonomis untuk tanaman yang memerlukan waktu lama untuk mencapai pemasakan. Produksi metabolit sekunder dalam kultur in vitro dapat dimaksimalkan dengan penambahan induser melalui berbagai cara, diantaranya dengan: perlakuan (Mondal, 2004), radiasi, sinar, diberi patogen misal jamur, pertumbuhan diganggu lewat pengurangan nutrisi. Relevan dengan penelitian Kitakawa (2003) bahwa produksi flavonoid melalui kultur suspensi dengan pencahayaan menghasilkan produk yang maksimum. Penggunaan zat pengatur tumbuh juga dapat digunakan untuk peningkatan produksi, melalui optimasi konsentrasi pemakaian zat pengatur tumbuh. Menurut penelitian Nikolaeva (2008) penggunaan zat pengatur tumbuh 2-4 D dengan konsentrasi (2×10^{-5} M) menghasilkan metabolit sekunder flavanoid paling maksimal. Menurut Saptarini (1994), elisitasi dengan penggunaan elisitor dalam produksi metabolit sekunder dapat menginduksi senyawa metabolit sekunder yang dituju.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode produksi ECG dengan teknik kultur in vitro melalui pemberian elisitor ion logam Mn sebagai upaya untuk mendapatkan bahan bioaktif dalam skala besar.

BAHAN & CARA KERJA

Bahan kalus meremah terbaik (*friable*) yang diperoleh dari kultur kalus diinokulasikan ke dalam medium cair yang ditambah ZPT: BAP dan 2,4-D masing-masing dengan konsentrasi 3ppm, dan sebagai kontrol digunakan medium tanpa penambahan ZPT.

Kalus dipotong dengan skapel dan hanya bagian kalus yang aktif membelah yang digunakan sebagai inokulan.

Masing-masing erlemeyer yang telah berisi medium cair diisi 500 mg kalus. Suspensi diinkubasi pada dua kondisi, yaitu tanpa dan dengan penggojokan (*shaker*) 100 rpm, diinkubasi kondisi gelap.

Setelah 1-2 minggu akan terbentuk suspensi sel, dilakukan subkultur (zakiah, 2003) di dalam LAF dengan menggunakan suspensi sel menggunakan nilon filter berporositas 80 mikron, kemudian filtrat dibagi dua bagian, dibiarkan selama 30-50 menit agar sel-sel mengendap, medium lama dibuang dengan cara menuang, kemudian medium baru ditambahkan. Erlemeyer yang berisi medium baru sebanyak 100 ml berisi sel-sel diletakkan di atas *shaker* dengan kecepatan 100 rpm diinkubasi kondisi gelap.

Elisitasi dengan ion logam Mn, dengan konsentrasin 0.5 ppm ditambahkan pada media suspensi sel, diinkubasi selama 15 hari di tempat gelap pada suhu ruang 25°C dalam *rotatory shaker* dengan kecepatan 100 rpm.

Waktu masa hasil kultur suspensi sel kemudian dipanen dianalisis secara kualitatif.

HASIL & PEMBAHASAN Induksi kultur suspensi

Hasil induksi kultur suspensi pada media cair yang diperoleh dari kultur kalus Terlihat pada Gambar 1.1 yaitu proses pemindahan kalus yang dicacah menjadi butiran halus yang dipindahkan pada media suspense yang dilakukan di Laminar Air Flow Cabinet.